

に行ったものである。ここに厚く感謝の意を表したい。

高見 正道, 上條 竜太郎  
(昭和大学歯学部口腔生化学)

- 1) Yoshida, H., Hayashi, S., Kunisada, T., Ogawa, M., Nishikawa, S., Okamura, H., Sudo, T., & Shultz, L.D. (1990) *Nature*, 345, 442-444.
- 2) Kaneda, T., Nojima, T., Nakagawa, M., Ogasawara, A., Kaneko, H., Sato, T., Mano, H., Kumegawa, M., & Hakeda, Y. (2000) *J. Immunol.*, 165, 4254-4263.
- 3) Miyamoto, T., Arai, F., Ohneda, O., Takagi, K., Anderson, D. M., & Suda, T. (2000) *Blood*, 96, 4335-4343.
- 4) Takayanagi, H. (2009) *Nat. Rev. Rheumatol.*, 5, 667-676.
- 5) Sobacchi, C., Frattini, A., Guerrini, M.M., Abinun, M., Pangrazio, A., Susani, L., Bredius, R., Mancini, G., Cant, A., Bishop, N., Grabowski, P., Del Fattore, A., Messina, C., Errigo, G., Coxon, F.P., Scott, D.I., Teti, A., Rogers, M.J., Vezzoni, P., Villa, A., & Helfrich, M.H. (2007) *Nat. Genet.*, 39, 960-962.
- 6) Hughes, A.E., Ralston, S.H., Marken, J., Bell, C., MacPherson, H., Wallace, R.G., van Hul, W., Whyte, M.P., Nakatsuka, K., Hovy, L., & Anderson, D.M. (2000) *Nat. Genet.*, 24, 45-48.
- 7) Simonet, W.S., Lacey, D.L., Dunstan, C.R., Kelley, M., Chang, M.S., Luthy, R., Nguyen, H.Q., Wooden, S., Bennett, L., Boone, T., Shimamoto, G., DeRose, M., Elliott, R., Colombero, A., Tan, H.L., Trail, G., Sullivan, J., Davy, E., Bucay, N., Renshaw-Gegg, L., Hughes, T.M., Hill, D., Pattison, W., Campbell, P., Sander, S., Van, G., Tarpley, J., Derby, P., Lee, R., & Boyle, W.J. (1997) *Cell*, 89, 309-319.
- 8) Takayanagi, H., Kim, S., Koga, T., Nishina, H., Isshiki, M., Yoshida, H., Saiura, A., Isobe, M., Yokochi, T., Inoue, J., Wagner, E.F., Mak, T.W., Kodama, T., & Taniguchi, T. (2002) *Dev. Cell*, 3, 889-901.
- 9) Matsuo, K., Galson, D.L., Zhao, C., Peng, L., Laplace, C., Wang, K.Z., Bachler, M.A., Amano, H., Aburatani, H., Ishikawa, H., & Wagner, E.F. (2004) *J. Biol. Chem.*, 279, 26475-26480.
- 10) Takegahara, N., Takamatsu, H., Toyofuku, T., Tsujimura, T., Okuno, T., Yukawa, K., Mizui, M., Yamamoto, M., Prasad, D. V., Suzuki, K., Ishii, M., Terai, K., Moriya, M., Nakatsuji, Y., Sakoda, S., Sato, S., Akira, S., Takeda, K., Inui, M., Takai, T., Ikawa, M., Okabe, M., Kumanogoh, A., & Kikutani, H. (2006) *Nat. Cell Biol.*, 8, 615-622.
- 11) Zhao, B., Takami, M., Yamada, A., Wang, X., Koga, T., Hu, X., Tamura, T., Ozato, K., Choi, Y., Ivashkiv, L.B., Takayanagi, H., & Kamijo, R. (2009) *Nat. Med.*, 15, 1066-1071.
- 12) Tailor, P., Tamura, T., & Ozato, K. (2006) *Cell Res.*, 16, 134-140.
- 13) Zhao, J., Kong, H.J., Li, H., Huang, B., Yang, M., Zhu, C., Bogunovic, M., Zheng, F., Mayer, L., Ozato, K., Unkeless, J., & Xiong, H. (2006) *J. Biol. Chem.*, 281, 10073-10080.
- 14) Kim, K., Kim, J.H., Lee, J., Jin, H.M., Kook, H., Kim, K.K., Lee, S.Y., & Kim, N. (2007) *Blood*, 109, 3253-3259.
- 15) Miyauchi, Y., Ninomiya, K., Miyamoto, H., Sakamoto, A., Iwasaki, R., Hoshi, H., Miyamoto, K., Hao, W., Yoshida, S., Morioka, H., Chiba, K., Kato, S., Tokuhisa, T., Saitou, M., Toyama, Y., Suda, T., & Miyamoto, T. (2010) *J. Exp. Med.*, 207, 751-762.

Regulatory systems responsible for osteoclast differentiation  
Masamichi Takami and Ryutaro Kamijo (Department of  
Biochemistry, School of Dentistry, Showa University, 1-5-8  
Hatanodai, Shinagawa, Tokyo 142-8555, Japan)

## 季節繁殖の制御機構と脳深部光受容器の解明

### 1. はじめに

温帯地域に生息する動物は、環境の季節変動に適応しながら子孫を残している。これらの動物の多くは、食糧資源や気温が仔の成長に適した春に、出産(産卵)できるよう、妊娠(孵卵)期間を逆算し、配偶子形成や性行動などの繁殖活動を行う。このような生存戦略を「季節繁殖」と呼ぶ。季節繁殖する動物は、日照時間の変化をカレンダーとして利用しているが、これは気温や降水量などの他の季節変動する環境因子と比較して、日照時間が正確な周期性を持つためであると考えられている。このように日照時間(光周期)の変化により生じる生理応答は「光周反応」と呼ばれている。本稿では、近年の研究により明らかになった季節繁殖の制御機構と、それを担う脳深部光受容器について紹介する。

### 2. 季節繁殖のモデル動物、ウズラ

脊椎動物の繁殖活動は視床下部—下垂体—性腺軸からなる内分泌系に支配されている。すなわち視床下部の性腺刺激ホルモン放出ホルモン(GnRH)が下垂体前葉に作用すると、性腺刺激ホルモン(黄体形成ホルモン:LH及び卵胞刺激ホルモン:FSH)が血中に分泌される。性腺刺激ホルモンは性腺(精巣, 卵巣)の発達を促し、性腺からは性ステロイドホルモンが産生される。季節繁殖動物が特定の季節に繁殖活動を営むためには、これらの内分泌系が日照時間の変化を読み取る中枢機構によって制御される必要がある。

我々はこの仕組みを解明するために、様々な脊椎動物の中で、最も敏速で劇的な光周反応を示すウズラ(*Coturnix japonica*)に着目した<sup>1)</sup>。ウズラは非繁殖期の短日条件から繁殖期の長日条件に移すと、長日条件1日目の終わりに

は血中 LH 濃度を上昇させ、2 週間で精巣が重量にして約 100 倍も発達するのである。

### 3. 脳内の甲状腺ホルモンの局所的な活性化が鍵を握る

ウズラの視床下部内側基底部 (MBH) を電気破壊すると、精巣の光周反応が阻害されるため、MBH に季節繁殖を制御する中枢が存在すると考えられていた<sup>2)</sup>。そこで我々はウズラの MBH を用いて、長日刺激特異的に発現誘導される遺伝子を探索した。その結果、季節繁殖を制御する鍵遺伝子として、2 型脱ヨウ素酵素をコードする *DIO2* 遺伝子を同定し、これが MBH に位置する第三脳室の上衣細胞で光誘導されることを見出した<sup>1)</sup>。2 型脱ヨウ素酵素は、低活性型の甲状腺ホルモン、チロキシン (T4) を、活性型甲状腺ホルモンのトリヨードチロニン (T3) へ変換する甲状腺ホルモン活性化酵素である。実際、長日条件下では *DIO2* の発現誘導により、MBH で局所的に T3 が上昇する<sup>1)</sup>。

視床下部から下垂体門脈へ GnRH を分泌する GnRH ニューロンは、両者を隔てる基底膜に神経終末を接着させることで GnRH を分泌すると考えられている。甲状腺ホルモンは脳の発達や可塑性に重要な役割を果たしている。したがって、長日条件下で MBH において合成された T3 は、この部位で形態変化をもたらしていることが予想された。そこで電子顕微鏡で超微形態を観察したところ、長日条件下では GnRH ニューロンの神経終末の多くが基底膜に接触していた。一方、短日条件下では GnRH ニューロンの神経終末の多くは、グリア細胞の終末部により、基底膜との接触が寸断されていた<sup>3)</sup>。また、短日条件下のウズラの MBH に T3 を投与したところ、神経終末の基底膜との接触ならびに精巣の発達が確認された。以上の結果から、長日刺激により MBH で活性化される甲状腺ホルモンが季節繁殖を制御することが示された。その後の研究で、ウズラだけでなく、スズメ、ラット、ハムスター、ヤギなどにおいても *DIO2* や甲状腺ホルモンが季節繁殖の制御に重要な役割を果たすことが確認されている。

### 4. 下垂体隆起葉の TSH は脳に春を告げる

我々は次にウズラに近縁なニワトリのゲノム情報をウズラに適用した機能ゲノミクスにより、季節繁殖を制御する遺伝子カスケードを明らかにした。まず、ウズラを短日条件から長日条件に移した際の MBH の時系列サンプルにおいて、ゲノムスケールの遺伝子発現解析を実施した。その結果、長日 1 日目の明期開始時刻から約 14 時間後に甲状

腺刺激ホルモン (TSH) の  $\beta$  サブユニットをコードする *TSHB* 遺伝子が、下垂体隆起葉で光誘導されることを見出した<sup>4)</sup>。下垂体隆起葉は下垂体の付け根に位置し、GnRH ニューロンの神経終末が存在する正中隆起を包み込むような構造をしている (図 1)。教科書的には TSH は、文字通り甲状腺に作用するホルモンとされており、脳に作用することは常識的に考えられなかった。しかし興味深いことに、TSH 受容体は季節繁殖を制御する鍵遺伝子 *DIO2* が発現する MBH の上衣細胞に発現していた。また、正中隆起は血液脳関門が存在しない脳室周囲器官であるため、下垂体隆起葉で合成された TSH は上衣細胞の *DIO2* 遺伝子の発現を制御している可能性が浮上した。そこで、短日条件のウズラの脳室内に TSH を投与したところ、*DIO2* 遺伝子の発現誘導と精巣の発達が確認された。これらの研究から、下垂体隆起葉で長日刺激依存的に産生される TSH は、視床下部に作用し、季節繁殖を制御するマスターコントロール因子であることが明らかになった (図 1)<sup>4)</sup>。我々はさらに哺乳類においても TSH が「春ホルモン」として働くことも確認している<sup>5)</sup>。

### 5. 季節繁殖を制御する光情報は脳深部で受容される

驚かれるかもしれないが、哺乳類以外の脊椎動物は脳の中でも光を受容している。例えば鳥類は、目の他にも松果体に光受容器を持つが、目と松果体がなくても季節繁殖が正常に行われる<sup>6)</sup>。したがって季節繁殖を制御する光情報は目、松果体以外の部位で受容されていると考えられてきた。また、発光ビーズ等でウズラの脳内を局所的に光照射すると、前脳の中隔野及び MBH の周辺を照射された個体において、精巣の発達が観察されていた<sup>7)</sup> (図 1)。これらの事実により、ウズラでは中隔野及び MBH に季節繁殖を制御する光受容分子が発現している可能性が示唆されていたが、その実体は明らかにされていなかった。

### 6. 脳深部光受容器の発見

我々は上記の二つの部位において、光受容分子であるロドプシン類の網羅的発現解析を試みた。その結果、MBH の室傍器官で唯一発現するオプシン 5 遺伝子 (*OPN5*) を検出した<sup>8)</sup>。オプシン 5 は最初、マウスでクローニングされ、脳、目、脊髄、精巣で発現が確認されていたが<sup>9)</sup>、各組織での詳細な局在や光応答性が確認されていない機能未知のオプシンであった。オプシン 5 が発現する室傍器官は第三脳室の両側壁に存在する (図 2)。ウズラの室傍器官の電気破壊は光周反応を阻害するため、この部位が季節繁

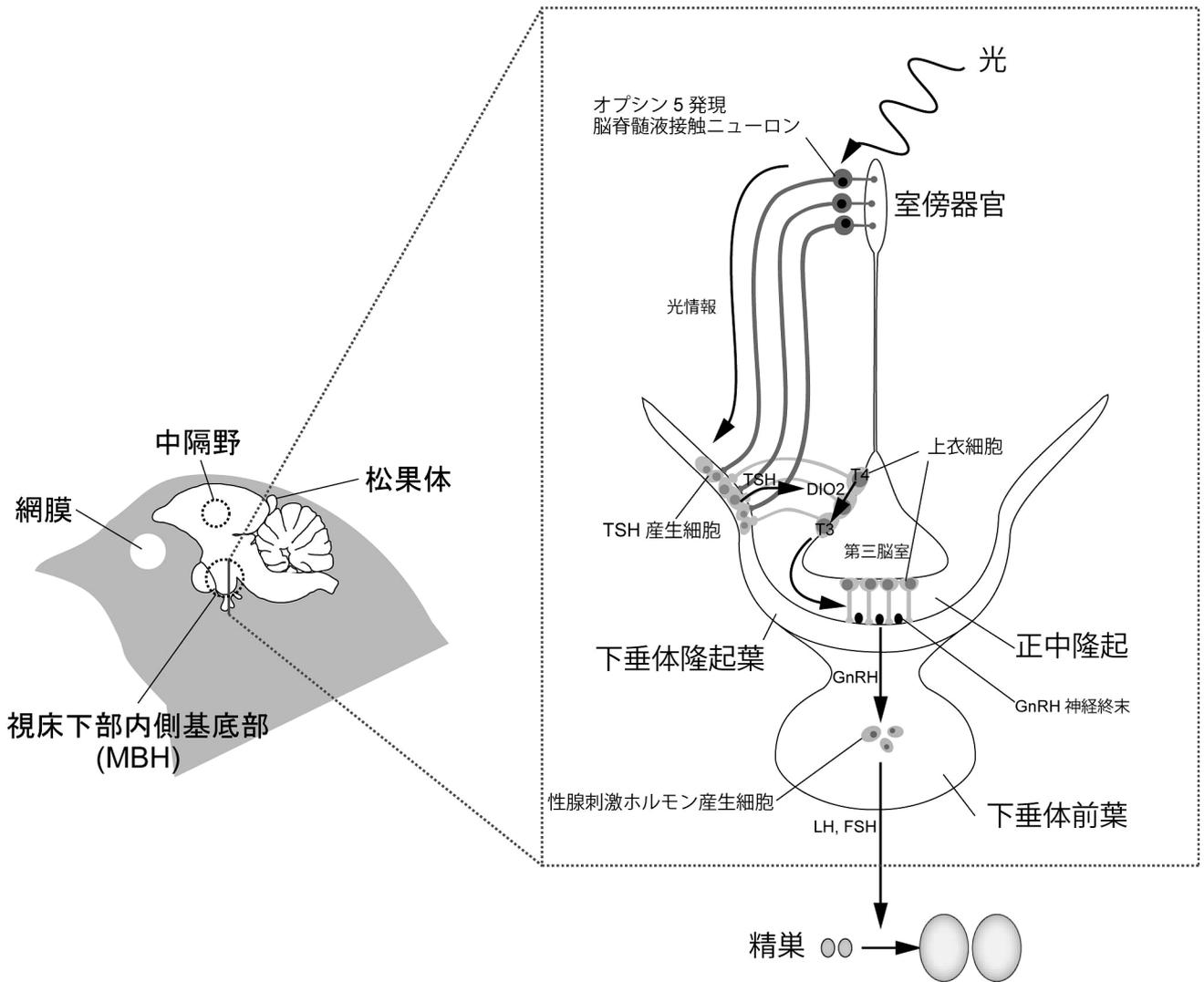


図1 季節繁殖を制御する情報伝達経路

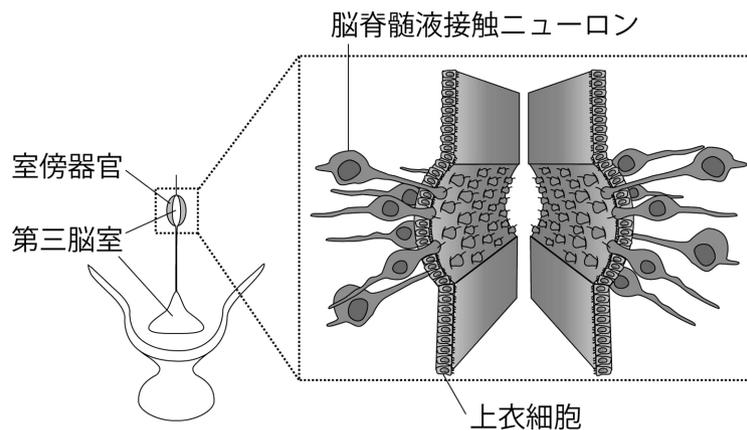


図2 室傍器官と脳脊髄液接触ニューロン

殖の制御に重要であることが示唆されていたが<sup>2)</sup>、生理機能は不明であった。室傍器官には脳脊髄液接触ニューロンが存在する。このニューロンは、双極性の構造を持ち、一方の突起を脳脊髄液で満たされた第三脳室内に突き出している(図2)。この突起の先には繊毛が見られるため、光受容器や化学受容器のような感覚性の細胞である可能性が疑われていた<sup>10)</sup>。オプシン5タンパク質の局在を調べると、室傍器官の脳脊髄液接触ニューロンで観察された。また、このニューロンが下垂体隆起葉に隣接する正中隆起外層に投射していることも確認された(図1)。そこで我々は次に、アフリカツメガエル卵母細胞にウズラオプシン5を強制発現させ、その膜電流の変化を二本の電極を用いて記録する二本刺膜電位固定法により、オプシン5の電気生理学的特性を検討した。この卵母細胞はGqタンパク質、ホスホリパーゼC、イノシトール三リン酸及び、細胞内Ca<sup>2+</sup>により活性化されるCa<sup>2+</sup>-Cl<sup>-</sup>チャネルを持っているため、Gqタンパク質共役型の受容体の活性化を電氣的に捉えることができる。解析の結果、オプシン5は光に依存した膜電流の変化を示し、光感度のピークを420nm付近に持つ紫色感受性光受容分子であることが明らかになった。

一般的に、長波長光の方が短波長光に比べ組織を透過しやすい。したがって、紫色に感受性のピークを持つオプシン5が脳深部光受容器として機能するという考えは矛盾しているように思われた。しかし、過去の文献を調べてみると、短波長光もウズラの羽、頭皮、頭蓋骨を透過し、視床下部まで到達することが報告されていた<sup>11)</sup>。さらに、目隠しと松果体除去を施したウズラに対して、短波長光の長日刺激を与えたところ、性腺の発達が観察された<sup>8)</sup>。以上の結果により、オプシン5を発現する脳脊髄液接触ニューロンの存在する室傍器官が、季節繁殖を制御する脳深部光受容器として機能していることが示された。

## 7. おわりに

季節繁殖の制御機構は長年ブラックボックスとして扱われてきたが、ウズラを用いた近年の研究により、光入力から内分泌系までの一連の情報伝達経路が明らかとなり、脊椎動物の季節繁殖の研究は飛躍的な進歩を遂げた。脳深部光受容器の存在がカール・フォン・フリッシュによって初めて指摘されてから、概ね100年が経つ。オプシン5の発見によって、ついに脳深部光受容器の実体が明らかとなったが、単一のオプシンが季節を読み取っているとは考えにくく、今後その他の候補のさらなる解析が望まれる<sup>12-14)</sup>。また、哺乳類においては目が唯一の光受容器官とされてい

るが、前述したようにマウスのオプシン5は目だけでなく脳でも発現している。マウスの脳内光受容能の可能性も含め、今後の研究の進展が期待される。

- 1) Yoshimura, T., Yasuo, S., Watanabe, M., Iigo, M., Yamamura, T., Hirunagi, K., & Ebihara, S. (2003) *Nature*, 426, 178-181.
- 2) Sharp, P.J. & Follett, B.K. (1969) *Neuroendocrinology*, 5, 205-218.
- 3) Yamamura, T., Hirunagi, K., Ebihara, S., & Yoshimura, T. (2004) *Endocrinology*, 145, 4264-4267.
- 4) Nakao, N., Ono, H., Yamamura, T., Anraku, T., Takagi, T., Higurashi, K., Yasuo, S., Katou, Y., Kageyama, S., Uno, Y., Kasukawa, T., Iigo, M., Sharp, P.J., Iwasawa, A., Suzuki, Y., Sugano, S., Niimi, T., Mizutani, M., Namikawa, T., Ebihara, S., Ueda, H.R., & Yoshimura, T. (2008) *Nature*, 452, 317-322.
- 5) Ono, H., Hoshino, Y., Yasuo, S., Watanabe, M., Nakane, Y., Murai, A., Ebihara, S., Korf, H.W., & Yoshimura, T. (2008) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 105, 18238-18242.
- 6) Siopes, T.D. & Wilson, W.O. (1974) *Poult. Sci.*, 53, 2035-2041.
- 7) Homma, K., Ohta, M., & Sakakibara, Y. (1979) in *Biological Rhythms and their Central Mechanism* (Suda, M., Hayaishi, O., & Nakagawa, H. eds.), pp. 85-94, Elsevier/North-Holland Biomedical Press, Amsterdam.
- 8) Nakane, Y., Ikegami, K., Ono, H., Yamamoto, N., Yoshida, S., Hirunagi, K., Ebihara, S., Kubo, Y., & Yoshimura, T. (2010) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 107, 15264-15268.
- 9) Tartelin, E.E., Bellingham, J., Hankins, M.W., Foster, R.G., & Lucas, R.J. (2003) *FEBS Lett.*, 554, 410-416.
- 10) Vigh, B. & Vich-Teichmann, I. (1998) *Microsc. Res. Tech.*, 41, 57-83.
- 11) Foster, R.G. & Follett, B.K. (1985) *J. Comp. Physiol. A*, 157, 519-528.
- 12) Wada, Y., Okano, T., Adachi, A., Ebihara, S., & Fukada, Y. (1998) *FEBS Lett.*, 424, 53-56.
- 13) Halford, S., Pires, S.S., Turton, M., Zheng, L., Gonzalez-Menendez, I., Davies, W.L., Peirson, S.N., Garcia-Fernandez, J. M., Hankins, M.W., & Foster, R.G. (2009) *Curr. Biol.*, 19, 1396-1402.
- 14) Chaurasia, S.S., Rollag, M.D., Jiang, G., Hayes, W.P., Haque, R., Natesan, A., Zatz, M., Tosini, G., Liu, C., Korf, H.W., Iuvone, P.M., & Provencio, I. (2005) *J. Neurochem.*, 92, 158-170.

中根 右介, 吉村 崇

(名古屋大学大学院生命農学研究科)

Understanding mechanism of seasonal reproduction and deep brain photoreceptor

Yusuke Nakane and Takashi Yoshimura (Graduate School of Bioagricultural Sciences, Nagoya University, Furo-cho, Chikusa-ku, Nagoya 464-8601, Japan)